



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Actividad repelente del aceite esencial de**  
***Minthostachys mollis* Grisebach; y elaboración de una**  
**crema repelente contra insectos adultos de la familia**  
***Culicidae***

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

Carlos Eduardo DÁVILA GUERRA

**ASESOR**

Alfredo Alonzo CASTILLO CALLE

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Dávila C. Actividad repelente del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach; y elaboración de una crema repelente contra insectos adultos de la familia *Culicidae* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2016.

---

597



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
DECANATO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

7  
13

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"ACTIVIDAD REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Grisebach; Y ELABORACIÓN DE UNA CREMA REPELENTE CONTRA INSECTOS ADULTOS DE LA FAMILIA *Culicidae*"**

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

**CARLOS EDUARDO DÁVILA GUERRA**

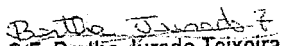
Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación ha obtenido la siguiente calificación:

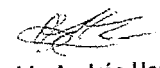
Dieciocho (18) - Sobresaliente

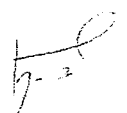
en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 20 de mayo del 2016

  
Mgtr. Margarita Eva Lobatón Erazo  
Presidenta

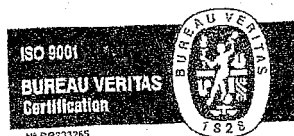
  
Q.F. Bertha Jurado Teixeira  
Miembro

  
Blgo. Oswaldo Andrés Herrera Cavero  
Miembro

  
Q.F. Julio Luis Díaz Uribe  
Miembro

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno, N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú  
Tel.: (511) 328-4737 / 328-4739 Fax: (511) 619-7000 anexo 4819 Ap. Postal 4559 - Lima 1  
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



## RESUMEN

Algunas plantas han sido tradicionalmente utilizadas para repeler a los mosquitos en zonas selváticas. En el presente trabajo se realizó la extracción del aceite esencial de las hojas de la planta muña (*Minthostachys mollis* Grisebach) mediante el método de destilación por arrastre de vapor. La planta había sido previamente clasificada en el departamento de Botánica del Museo de Historia Natural de la UNMSM. En esta investigación se emplearon mosquitos obtenidos por el método de recuperación de larvas en aguas estancadas del Jardín Botánico de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, los cuales fueron clasificados por el departamento de entomología del museo de Historia Natural de la UNMSM Lima-Perú. Se realizó el test de repelencia teniendo como referencia el método propuesto por Talukder y Howse. Se cortó papel filtro del diámetro de los desecadores (25 cm aproximadamente) que simularon la jaula de prueba, este papel se dividió en dos mitades. Para evitar la volatilidad del aceite se preparó soluciones al 10, 15, 20 % v/v utilizando aceite mineral USP cosmético. Como control positivo se usó una marca comercial de repelente en spray que contiene dietilentoluamida (DEET) al 15% aprox. (según información del propio producto) y como control negativo aceite mineral cosmético. Las zonas tratadas y no tratadas de cada círculo se colocaron en forma contigua dentro de los desecadores, y se liberaron en su interior 10 mosquitos. Se realizaron los recuentos de mosquitos presentes en cada mitad del círculo cada hora hasta la tercera hora posterior al tratamiento determinándose que el aceite esencial de la “muña” (*Minthostachys mollis* Grisebach), posee un grado de repelencia (nivel I),

posteriormente se elaboró una crema a partir del aceite esencial al 10% obteniéndose un grado de repelencia de Grado I.

**Palabras clave:**

Repelente, aceite esencial, “muña”, mosquitos, dietilentoluamida (DEET),

***Minthostachys mollis* Grisebach.**

## SUMMARY

Some plants have traditionally been used to repel mosquitoes in forested areas. In this work the extraction of essential oil from the leaves of the plant muña (*Minthostachys mollis* Grisebach) was performed by the method of stripping steam. The plant had previously been classified in the Department of Botany Natural History Museum of San Marcos. In this research mosquitoes obtained by the method of recovering larvae in stagnant water of the botanical garden of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of San Marcos, which were classified by the department of entomology at the Natural History Museum of San Marcos Lima they were used Peru. Repellency test with reference proposed by Talukder and Howse method was performed. Filter paper desiccator's diameter (about 25 cm) which simulated the test cage was cut; this paper was divided into two halves. To avoid the volatility of the oil solutions it was prepared at 10, 15, 20% v / v mineral oil used cosmetic USP. As a positive control a trademark of repellent containing dietilentoluamida (DEET) spray about 15% was used. (According to information of the product itself) as a negative control and cosmetic mineral oil. The treated and untreated areas of each circle were placed contiguously in desiccators, and released within 10 mosquitoes. Counts of mosquitoes present were performed in each half of the circle every hour until the third hour after treatment it determined that the essential oil of "muña" (*Minthostachys mollis* Grisebach), has a degree of repellency (level I), subsequently developed a cream from 10% essential oil with a degree of repellency grade I.

**Keywords:**

Repellent essential oil, "muña", mosquitoes, dietilentoluamida (DEET),

***Minthostachys mollis*** Grisebach.



## **I.-INTRODUCCIÓN**

Los mosquitos son importantes vectores de enfermedades como la fiebre de la chinkungunya y el dengue. El 6 de diciembre de 2013 fueron reportados y confirmados, por análisis de laboratorio, dos casos en las islas de San Martín, Mayotte y de la Reunión en la parte francesa del Caribe. Un brote de dengue se producía en estas islas en enero de 2013; durante la investigación, el 18 de noviembre de 2013 se detectó la enfermedad CHIKV (la fiebre Chinkungunya) debido a la notificación de 5 casos en los que se presentaban fiebre y dolores articulares. Posterior a esto, se notificó casos frecuentes de personas que habitan el Caribe. (1)

Estos son los primeros reportes de la transmisión del virus CHIKV, detectado en la región de América, como lo mencionó la OMS (2014). La OPS/OMS el 6 de diciembre de 2013 recibió la confirmación de los primeros casos de transmisión autóctona del CHIKV en América. Estos registros se actualizan semanalmente (OPS, 2014) (1). En enero del 2015, el Ministerio de Salud declaró la alerta amarilla en Lima Metropolitana, Callao, Tumbes, Piura, Lambayeque, Cajamarca, Loreto y Ucayali debido al riesgo de transmisión del virus de Chikungunya.

La primera epidemia conocida de dengue en territorio americano ocurrió en el siglo XVIII. A partir de entonces, esta enfermedad ha afectado a casi todos los países de la Región, aunque en la actualidad el mayor número de casos se concentra en América Latina y el Caribe. El dengue, es considerado un reto

para la salud pública en el mundo ya que más de 2,500 millones de personas - es decir, más de dos quintas partes de la población mundial viven en zonas en riesgo de dengue y más de 100 países han informado de la presencia de esta enfermedad en su territorio (2). Los climas tropical y subtropical de varias regiones del Perú hacen propicia la diseminación del virus del dengue. En el Perú, los casos de dengue en los últimos años han venido incrementándose. En el año 2014 se notificaron 15 435 casos de dengue según cifras de la Dirección General de Epidemiología del MINSA. Esto significó un aumento de los casos en un 24,58% con respecto al año 2013 cuando se notificaron aproximadamente 12 390 casos. Además, las muertes por la infección de este virus pasaron en un año de 17 a 24 casos. (3)

Los principales vectores para el virus CHIKV y para el dengue son el *Aedes aegypti* y el *Ae. albopictus*; estas especies de mosquitos se encuentran distribuidas ampliamente en los trópicos aunque también en latitudes más templadas (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2011; Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos [CDC], 2012). Aunque estos vectores se pueden controlar por medios físicos y sin el uso excesivo de sustancias químicas sintéticas, el control químico sigue siendo la principal medida recurrente para garantizar una disminución drástica de las infestaciones del vector. (2)

Por definición, los repelentes son sustancias que actúan de forma local evitando que un insecto en pleno vuelo se pose y pique en la piel (4,5). Hoy en día, se comercializa repelentes sintéticos y naturales o mezcla de ellos. El más conocido es el DEET (N-N- dietil-m-toluamida). Es el más eficaz y persistente

en la piel (6,7). Debido a su patrón de uso limitado, la exposición al DEET proviene solo de aplicaciones personales. No se utiliza en la agricultura y, por lo tanto, no se encuentra presente en los alimentos. Se descompone lentamente en el suelo y con bastante rapidez en la atmósfera (8).

Ante el aumento de las enfermedades emergentes y reemergentes y el alto costo de las campañas de control antivectoriales, el mundo encamina sus esfuerzos en la búsqueda de alternativas más ecológicas, menos contaminantes y dañinas al ser humano y al medio o ambiente.

Las propiedades de las plantas han sido utilizadas desde la antigüedad con fines medicinales, insecticidas y para repeler, aunque fuese momentáneo, la picadura de insectos, sirviendo algunas como precursoras de los insecticidas que hoy conocemos en la actualidad (9).

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles de las plantas, generalmente son destilables por arrastre con vapor de agua y contienen las sustancias responsables del aroma, son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (10).

Algunos repelentes basados en plantas son comparables con los sintéticos aunque tiendan a ser de menor duración. Entre las plantas productoras de aceites esenciales, con actividad repelente, se han estudiado las pertenecientes a géneros, como *Cymbopogon* spp., *Eucalyptus* spp. y *Ocimum*

spp. Estas plantas han sido tradicionalmente utilizadas para repeler a los mosquitos en zonas selváticas como en Bolivia (10). Estos géneros producen la mayoría de los repelentes naturales utilizados en el mundo (11).

En el Perú desde tiempos ancestrales, la “muña”, ***Minthostachys mollis*** ha sido utilizada en la preparación de alimentos, con propósitos medicinales y para repeler los insectos en cosechas. Ante la posibilidad de ampliar el uso actual de esta planta como un recurso ecosostenible, este trabajo tiene como objetivo extraer el aceite esencial y demostrar el efecto repelente contra los insectos adultos de la *familia Culicidae* en condiciones de laboratorio, posteriormente se pretende elaborar una crema con la concentración más adecuada según los resultados y demostrar su actividad repelente frente a estos insectos adultos de la familia *Culicidae*.

## II.-GENERALIDADES

### 2.1 ASPECTOS GENERALES

En los últimos años ha aumentado la necesidad de encontrar productos naturales que puedan sustituir el uso de químicos sintéticos para el control de insectos y artrópodos, ya que el uso de estos productos sintéticos genera dudas con respecto al impacto en el tiempo que pueden tener hacia el ambiente y en la salud humana.

En la sección 6.6 del formulario modelo de la Organización Mundial de la Salud, se afirma a la dietiltoluamida, como un repelente de insectos eficaz, que se utiliza para la prevención de infecciones transmitidas por picaduras de insectos, garrapatas, ácaros de la cosecha y pulgas. La dietiltoluamida se utiliza en forma solución cutánea al 50%,75%. Una aplicación ofrece protección durante 4 a 8 horas (12). Sin embargo la naturaleza pone a nuestro alcance los aceites esenciales, los cuales tienen aplicaciones muy variadas. Una de éstas es su propiedad para actuar como repelente, por la composición variada que presentan, hacia diferentes especies de insectos y artrópodos, esto reafirma el valioso potencial que sugiere su estudio.

Los productos naturales tienen el potencial de proporcionar una repelencia más segura para los seres humanos y para el medio o ambiente, Entre las familias de plantas con aceites esenciales prometedores utilizados como repelentes, *Cymbopogon spp.*, *Ocimum spp.* y *Eucalyptus spp.* son las especies más citadas. Los compuestos individuales presentes en estas mezclas con alta

actividad repelente incluyen  $\alpha$ -pineno, limoneno, citronelol, citronelal, alcanfor y timol. (13). Otras especies: *Piperitum zanthoxylum*, *Graveolens anethum* y *Kaempferia galanga*, ejercieron protección contra *Ae. aegypti*, con tiempos medios de protección completa de 1, 0,5 y 0,25 h, respectivamente. Los tiempos de protección se incrementaron significativamente con la incorporación de 10% vainillina (14).

Similares resultados fueron encontrados al realizar estudio de los aceites esenciales de plantas aromáticas que crecen en Argentina: *Acantholippia seriphioides*, *Achyrocline satureioides*, *Aloysia citriodora*, *Anemia tomentosa*, *Baccharis spartioides*, *Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus saligna*, *Hyptis mutabilis*, ***Minthostachys mollis*** Grisebach, *Rosmarinus officinalis*, *Tagetes minuta* y *Tagetes pusilla*. La mayoría de los aceites esenciales fueron eficaces demostrando repelencia contra *Aedes aegypti*. (15)

## **2.2 CARACTERES IMPORTANTES DE *Minthostachys mollis* “muña” Y DE LOS INSECTOS DE FAMILIA *Culicidae***

### **2.2.1 RESEÑA HISTÓRICA Y USO EN LA MEDICINA TRADICIONAL**

La “muña” fue descrita por primera vez en el siglo XVII como una planta semejante al orégano pero de hojas menores y color verde más claro, de flores blancas parecidas a las de la col, pero menores y de muchas fragancias. Los indígenas las usaban como resolutiva de tumores y sus hojas mezcladas con la

de la chilca, en fracturas de huesos. Se le usó también como febrífugo, antiinflamatorio y digestivo.

Cobo en 1654, con respecto al aroma de la “muña” menciona que es una planta parecida entre poleo (*Menta pulegium*) y orégano (*Oreganum vulgare*) y de que es ésta la de más aguda y penetrativa fragancia de cuantas se había topado en las Indias.

Es utilizado como antiinflamatorio, carminativo, antiséptico, analgésico en afecciones renales y respiratorias. Se utiliza como pesticida, para conservar la papa, para lo cual se cubre con la Planta y se controla la germinación y el ataque de las plagas.

Las hojas y flores frescas o secas se agregan a las comidas para equilibrarlas, como condimento en la preparación de carnes y guisos (16).

### 2.2.2 ASPECTOS BOTÁNICOS

La especie ***Minthostachys mollis* Grisebach**, se clasifica dentro de la familia LAMIACEAE. Recientemente ha sido revisado este género que incluye 17 especies, una de ellas con tres variedades, para el Perú fueron registrados 6 especies de *Minthostachys* y 3 especies endémicas (17), de los cuales dos especies ***Minthostachys mollis* Grisebach** y *Minthostachys tomentosa* son registrados para el departamento de Huánuco (18).

### **2.2.3 MOMENTOS DE CORTE Y PRODUCCIÓN DE HOJAS Y ACEITE ESENCIAL DE “muña”**

La muña es una planta adaptada a las condiciones ambientales de la parte media y alta de los Andes, su crecimiento y desarrollo está supeditado a las condiciones climáticas de la zona, la abundancia de lluvias favorece su crecimiento. Las partes utilizadas de esta planta son las partes aéreas: hojas, tallos y flores (19).

Los momentos de corte estudiados indican que la muña puede recuperarse cuando es cortado en la fase de crecimiento, casi todas las plantas rebrotan después del corte. Resultados similares en altura de planta fueron registrados con fertilización de nitrato de amonio a los cuatro meses. El corte en el momento de inicio de la floración, es el más adecuado, ya que la planta llega casi a la madurez, produciendo la mayor cantidad de hojas para la extracción de aceites esenciales. Luego de este desarrollo la planta empieza a perder las hojas, por lo que la cosecha de hojas debe realizarse al de inicio de floración (19).



### 2.3.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *Minthostachys mollis* Grisebach

Se ha analizado los aceites esenciales de algunas especies de *Minthostachys*, así Alkire (20), identifica 19 componentes en aceite esencial de *Minthostachys mollis* en Ecuador y los principales componentes son: Neomenthol (29,3%), Menthone (24,0%) y Mentol (20,6%). Senatore <sup>(21)</sup>, reporta 50 componentes en aceite esencial de *Minthostachys setosa* colectada en plena floración cerca de Lima-Perú y los componentes más abundantes son: Pulegone (47,4%) y Menthone (25,3 %). Rojas y Usubillaga <sup>(22)</sup> analizaron el aceite esencial de *Minthostachys mollis* de Venezuela. Pulegone es el principal componente con 79,32% y 75,2% cosechados a 3600 y 1600 m.s.n.m., respectivamente, seguido por menthone con 3,98% y 10,38% respectivamente.

Fuertes y Munguía <sup>(23)</sup> analizaron la composición química de *Minthostachys mollis* Grisebach (Kunth) Grises colectadas en Tarma, Huaraz y Huancavelica (Pampas) en el Perú, indicando como principales componentes: 2S-trans-mentone (23,0%) y pulegone (13,21%) en Tarma; 2S-transmentone (41,48%) y pulegona (16,02%) en Huaraz y 2S-trans-mentona (34,51%) y pulegona (28,62%) en Huancavelica (Pampas). De los análisis se puede apreciar que existe mucha variabilidad en la concentración y los componentes químicos en los diferentes lugares y especies de *Minthostachys*. En la microcuenca Higuera del departamento de Huánuco se han registrado gran diversidad de muñas, pero solamente se ha evaluado la producción de aceites esenciales de muña por planta, Maquera et al (18). Posteriormente realizó un análisis de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* de dos especies colectadas en

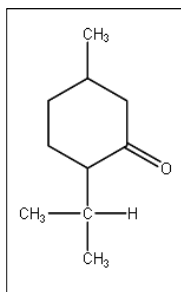
Tambillo y Mitocucho (Huánuco) y encontraron que los componentes químicos más importantes por su mayor concentración fueron la pulegone y luego la menthone (24).

### 2.3.1 MENTONA

La mentona es un monoterpeno monocíclico cetónico, de los cuatro isómeros ópticamente activos de mentona, l- mentona es el que más se encuentra en la naturaleza, es ligeramente soluble en agua y soluble en solventes orgánicos. Encontrados en varios aceites volátiles, tales como: menta, geranio, etc. tiene la fórmula molecular de:  $C_{10}H_{18}O$  y un peso molecular de 154,25 g/mol. C 77.87%, H 11.76%, O 10.37%.

Su nombre IUPAC es:

(2*s-trans*)-5-Methyl-2-(1-methylethyl)ciclohexanone; (1*R*,4*S*)-(-)-p-menthan-3-one; 1- methyl-4-isopropylcyclohexan-3-one. (25)

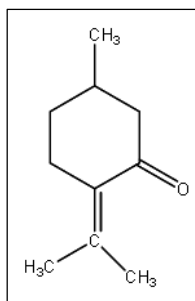


**Figura 1. Estructura química de la mentona.**

### 2.3.2 PULEGONA

La pulegona es un monoterpeno monocíclico cetónico, tiene la fórmula molecular de:  $C_{10}H_{16}O$  y un peso molecular de 152,23 g/mol. C 78.90%, H 10.59%, O 10.51% encontrado en los aceites derivados de plantas de la familia de las *Labiatae*. Fácilmente aislado de los aceites de *Menta pulegium*, es insoluble en agua, miscible con alcohol, éter, cloroformo. Su nombre IUPAC es:

(5*R*)-5-Methyl-2-(1-methylethylidene) cyclohexanone; R-(+)-p-Menth-4(8)-en-3-one; 1-methyl-4-isopropiliden-3-ciclohexanone. (25)



**Figura 2. Estructura química de la pulegona**

### 2.4 CARACTERES IMPORTANTES DE LA FAMILIA *Culicidae*.

Los culícidos son los llamados “mosquitos” o “zancudos”, los miembros de las familias *Chironomidae*, *Dixidae* y *Chaoboridae* pueden confundirse con los culícidos o verdaderos mosquitos debido a su semejanza superficial tanto de los adultos como de las larvas. Los adultos son delicados, de 3 a 9 mm de longitud. Con cabeza globosa, grandes ojos compuestos y no presentan ocelos. Las antenas largas y finas, nacen de los lados de la frente, constituidas

por 15 segmentos. En la base de cada segmento, nacen pelos que en el caso de los machos son largos y densamente dispuestos, dando la apariencia de una pluma; en la hembra por el contrario, los pelos son cortos y escasos. Las piezas bucales, de tipo estiletiforme, son incluidas en un estuche, formando la llamada probóscide. A cada lado de la probóscide se encuentran los palpos, los cuales sirven para distinguir a los sexos y para separar la subfamilia *Anophelinae* de la subfamilia *Culicinae*. En los culícinos los palpos de las hembras miden menos de la mitad de la longitud de la probóscide. En los anofelinos, los palpos de ambos sexos son casi tan largos como la probóscide. (32).

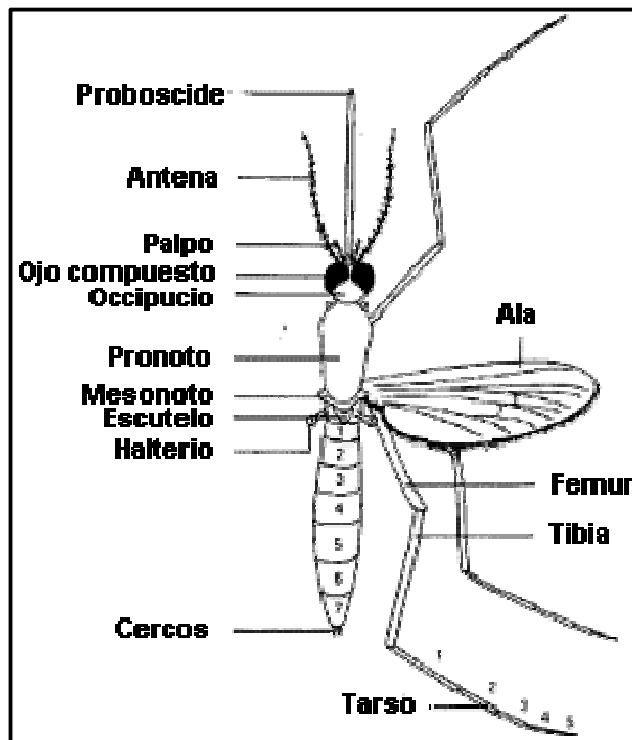
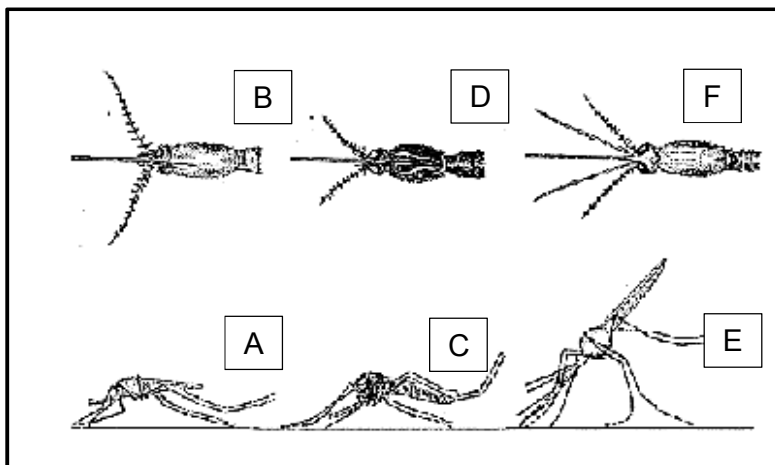


Figura 3. Anatomía externa de la familia *Culicidae*



**Figura 4. “Mosquitos” adultos.**

A, C, E. Posición de reposo, característica de *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* y *Anopheles quadrimaculatus*, respectivamente.  
B, D, F. Vista dorsal de la cabeza y apéndices cefálicos, tórax y segmentos anteriores del abdomen de *C. pipiens*, *A. aegypti* y *A. quadrimaculatus*.

Una de las características más notorias de esta familia la constituyen las alas largas y angostas, su venación y la presencia de escamas tanto sobre las venas como en el borde posterior del ala formando un fleco.

La familia *Culicidae* se subdivide en tres subfamilias, *Toxorhynchitinae*, *Culicinae* y *Anophelinae*. Hay más de 3000 especies de mosquitos distribuidos por todo el mundo, desde altitudes de 4300 m.s.n.m. En *Culicinae* se incluyen unas 1700 especies distribuidas en unos 20 géneros, siendo los más comunes *Aedes* y *Culex*. En Costa Rica se reconocen unas 21 especies de anofelinos y unas 67 de culícinos. *Culex quinquefasciatus* es el famoso mosquito domiciliar, *Aedes aegypti* es el transmisor del virus de la fiebre amarilla urbana y *Anopheles albimanus*, es en Centro América, el vector principal de la malaria humana.

En el ciclo de vida de los culícidos, los huevos, las larvas y las pupas son acuáticos. Los huevecillos diminutos se les encuentran en la superficie del agua y están provistos de diferentes sistemas para flotar. Las hembras los colocan separadamente como en las especies de los géneros *Anopheles* y *Aedes* o en grupos como en *Culex* y *Culiseta*. La larva es de forma tubular, aplastada en sentido dorsoventral con una cabeza más o menos redondeada y bien diferenciada, un tórax más abultado que el abdomen el cual es alargado. La pupa es también activa y difiere marcadamente de las larvas ya que típicamente puede ser comparada con una coma. Con un cefalotórax voluminoso, el cual presenta un par de cuernos o trompetas para respirar. El abdomen es fino y deprimido. Del último segmento sobresalen un par de paletas o remos natatorios que sirven para impulsar a la pupa en el agua. Las hembras adultas se alimentan de sangre y los machos de jugos vegetales expuestos. (32)




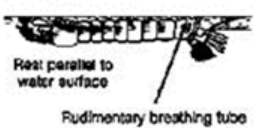

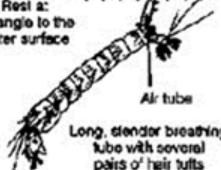



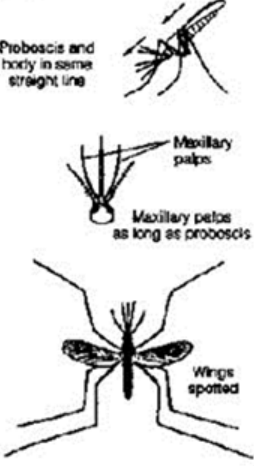
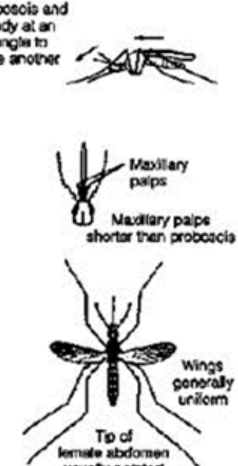
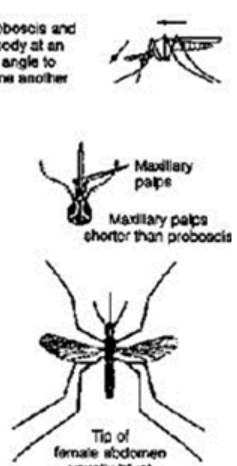






Huevos	 <p>Laid singly Has floats</p>	 <p>Laid singly No floats</p>	 <p>Laid in rafts No floats</p>
Larvas	 <p>Rest parallel to water surface Rudimentary breathing tube</p>	 <p>Rest at an angle to the water surface Air tube Short, stout breathing tube with one pair of hair tufts</p>	 <p>Rest at an angle to the water surface Air tube Long, slender breathing tube with several pairs of hair tufts</p>
Pupas			
Adultos	 <p>Proboscis and body in same straight line Maxillary palps Maxillary palps as long as proboscis Wings spotted Tip of female abdomen usually pointed</p>	 <p>Proboscis and body at an angle to one another Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis Wings generally uniform Tip of female abdomen usually pointed</p>	 <p>Proboscis and body at an angle to one another Maxillary palps Maxillary palps shorter than proboscis Wings generally uniform Tip of female abdomen usually blunt</p>
			
	<p>Anopheles stephensi</p> 	<p>Aedes aegypti</p> 	<p>Culex quinquefasciatus e Culex pipiens</p> 

Figura 5. Características de los estadios de la especie *Anopheles sthepensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*.

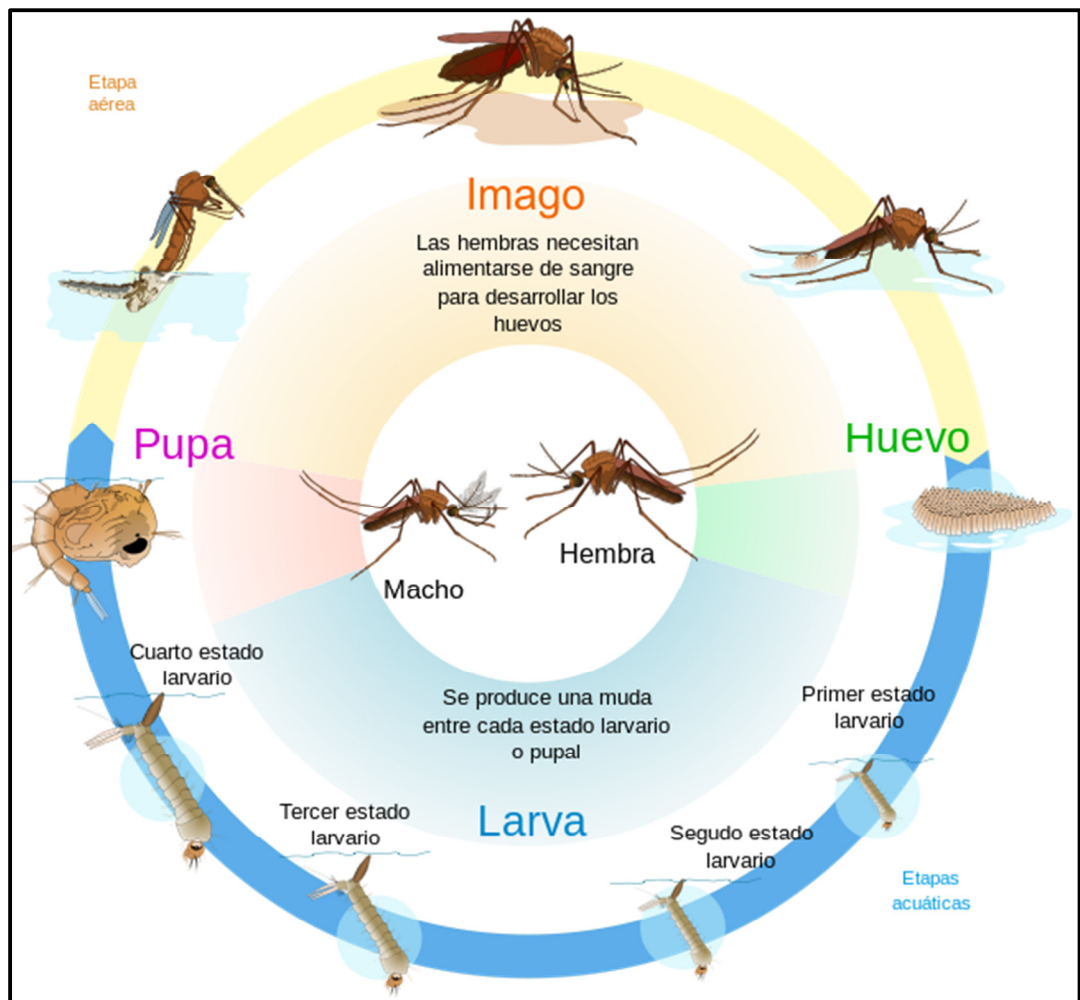





Figura 6. Ciclo vital de “mosquitos”



Familia Culicidae	
<i>Aedes aegypti</i>	
<i>Anopheles stephensi</i>	
<i>Culex quinquefasciatus</i>	

## **2.5 ASPECTOS TECNOLÓGICOS**

### **2.5.1. Consideraciones de las formas farmacéuticas de uso tópico**

Las afecciones dermatológicas se caracterizan por presentar alteraciones en la estructura y funcionalidad de la piel. Dichos procesos pueden ser de muy diversa etiología, sintomatología y tipos; siendo la terapéutica cutánea coadyuvante de otros tipos de medicación y en otras ocasiones la única vía para abordar manifestaciones patológicas (26).

Este tipo de preparados persiguen exclusivamente efectos localizados en la piel (epidermis y/o dermis) o mucosas; debe evitarse o reducir al máximo la absorción transcutánea (cuando cualquier sustancia atraviesa la epidermis, dermis y tejido adiposo llegando al nivel sistémico) de los componentes, o de productos activos presentes en los mismos, ya que puedan provocar efectos secundarios no deseados. (27)

#### **A. Elección del Ingrediente Farmacéuticamente Activo (IFA)**

Debe tenerse presente que él o los ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) deben presentar una alta especificidad para el tipo de afección; asimismo debe recordarse que en piel descamada o lesionada con pérdida de estratos córneos epidérmicos superiores (lo que ocurre por ejemplo en psoriasis, quemaduras, incisiones y otras

lesiones traumáticas), la absorción de la mayoría de principios activos puede estar notablemente incrementada, con el riesgo subsiguiente de que pueden tener efectos sistémicos no deseados (27).

#### **B. Elección de la Forma Farmacéutica y Excipientes Adecuados:**

Se debe realizar un análisis y tomar con precaución la elección de la forma farmacéutica, particularmente en aquellos casos en los que el área a tratar es extensa (quemaduras, heridas) en los que los capilares están al descubierto. Formas farmacéuticas que liberen con facilidad al IFA pueden dar también lugar a los efectos sistémicos no deseados (28,29). Los vehículos utilizados en las formas farmacéuticas tópicas deben poseer una serie de características farmacotécnicas de tipo general y adicionalmente otras más específicas, relacionadas con las condiciones de su utilización concreta: objetivo terapéutico del preparado, naturaleza de las lesiones o afecciones que constituyen la indicación específica, propiedades fisicoquímicas y biológicas de los Ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) que incorporan, etc.(27).

- **CARACTERÍSTICAS DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS**

- ❖ **Generales:**

1. pH: debe ser neutro o débilmente ácido (4.5-7), lo más próximo posible al de la piel.
2. Características organolépticas agradables.
3. Compatibilidad con el o los ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) que se incorporan asegurando así su estabilidad física y química.
4. El preparado debe presentar una adecuada extensibilidad y adaptabilidad a la superficie y cavidades cutáneas: propiedades reológicas. Para ello es recomendable que posean flujos de tipo plástico-tixotrópico, caracterizado por un incremento de la fluidez durante la aplicación, seguida de una recuperación de la textura inicial después del extendido, lo que permite localizarlo y adherirlo a la zona tratada.
5. La posibilidad de ser eliminados de la zona tratada mediante un simple lavado.
6. No deben manchar, en lo posible, ni la piel ni los tejidos de las ropas.
7. No deben presentar efectos de irritación primaria ni sensibilizaciones. Buena tolerancia.

❖ **Específicas en función a tipo de Lesión:**

- Miscibilidad vehículo/emulsión- epicutánea: interesa que sea lo menor posible en preparados de acción superficial; en cambio, es conveniente que sea mayor en aquellos casos en los que se pretenda una penetración dérmica del principio activo.
- Poder absorbente de exudados patológicos: se utilizan polvos o pastas dérmicas para la remisión de lesiones de tipo eccematoso.
- Poder protector: debe ser alto en preparados empleados para evitar las agresiones dérmicas provocadas por sustancias irritantes (ácidos, álcalis) en las denominadas cremas agua en aceite (A/O) o pomadas barrera.
- Capacidad de cesión difusiva de los principios activos que incorporan.(30)

**C. Permeabilidad de la piel y efectos cosméticos del vehículo.**

Se debe definir a qué nivel de la piel debe llegar el o los ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) (dermis, epidermis o tejido celular subcutáneo). Como la piel constituye tanto un mecanismo de protección como un órgano de excreción, dispone de una serie de mecanismos que se debe superar. La nomenclatura utilizada en

dermatología, está basada en la profundidad de penetración de los ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) (26,28):

- **Adsorción:** adhesión de la sustancia a la superficie de la piel.
- **Absorción:** penetración de las sustancias hasta los estratos más profundos sin internarse en los vasos sanguíneos.
- **Resorción:** tiene lugar cuando las sustancias atraviesan la dermis alcanzando incluso los vasos sanguíneos, generando acciones sistémicas.

Además, hay que tener en cuenta ciertas premisas para una adecuada absorción:

- **Peso molecular:** solo existe penetración cuando el peso molecular es superior a 20 000 uma. Los iones o las sustancias de bajo peso molecular tienen dificultades de penetración.
- **Estructura molecular (configuración química):** debe existir una acción recíproca intermolecular entre los grupos terminales de los ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) y los grupos terminales de los componentes de la piel. Sustancias polares tiene dificultades para la penetración.

- **Grado de hidratación de la capa córnea:** mientras la piel esté más hidratada, será más permeable.

Entre las vías o medios de penetración de los principios activos tenemos:

- **Intracelular:** de célula a célula.
- **Intercelular:** a través de los espacios intercelulares.
- **Glandular:** a través de los conductos excretores de las glándulas sebáceas y sudoríparas
- **Transfolicular:** a través de los folículos pilosos.

Aplicando conjuntamente las premisas anteriores expuestas y asumiendo que el medicamento está correctamente aplicado podrá obtenerse el efecto terapéutico deseado (30).

### **2.5.2 Tipos de formas farmacéuticas de uso tópico**

Se clasifican de acuerdo al tipo de lesión a tratar:

#### **A. Tratamiento de lesiones de tipo crónico.**

Entre estas lesiones tenemos: heridas y costras, xerosis, liquenificación, descamación. Las formas farmacéuticas de este grupo deben presentar como característica principal la oclusividad, que conlleva a evitar la pérdida de agua y genera un efecto hidratante acusado. Como ejemplo de estas formas farmacéuticas tenemos: apósitos oclusivos, pomadas propiamente dichas, ungüentos hidrófobos o lipogeles, pomadas absorbentes de agua, pomadas hidrófilas, cremas agua en aceite (A/O) (27).

- **UNGUENTOS O LIPOGELES.**

Son vehículos oleosos, oclusivos que generan una acción emoliente-lubricante. No incluye la presencia de agua. Los más representativos están integrados por bases hidrocarbonadas, cuya presencia otorga una consistencia deseada a la forma farmacéutica. Estos vehículos son los de mayor elección debido a su inercia química.



- CREMAS ACEITE EN AGUA (A/O).

Se obtiene por adición de agua a las bases emulgentes (A/O), quedando la fase acuosa emulsionada como fase interna. Su acción oclusiva es menor que la de los lipogeles. Pueden absorber cierta cantidad de agua o exudados de las lesiones.

Tabla1. Parámetros a considerar en una crema (A/O) y un ungüento.

UNGÜENTO	CREMA AGUA EN ACEITE (A/O)
Buena consistencia	Buena consistencia
Extensibilidad media	Extensibilidad media
No debe ser eliminado de la piel por simple lavado	No debe ser eliminado de la piel por simple lavado
Debe presentar un punto de fusión mayor a 37°C.	Debe presentar un punto de fusión mayor a 37°C.
Dentro de su formulación el 70-80% lo compone un excipiente oleoso.	Debe presentar sensación untuosa

**B. Tratamiento de lesiones de tipo Agudo.**

Entre estas lesiones tenemos: eritema, vesículas, ampollas y exudación.

Las formas farmacéuticas de este grupo deben presentar como característica principal un mayor efecto penetrante, que conlleve a la evaporación del agua y rebajar la hidratación. Como ejemplo de estas formas farmacéuticas tenemos: hidrogeles, polvos, pastas acuosas, lociones suspensiones, cremas aceite en agua (O/A) (30).

### III.- PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Materiales

- Papel filtro.
- Tijera.
- Desecadores (ver esquema).
- Compresora de aire para pc. (marca Thakita).
- Tubos de plástico transparente.
- Potes de plástico transparentes con tapas.
- Mosquitero.
- Cinta adhesiva.
- Frasco ámbar con tapa.
- Plástico de Parafina (Parafilm "M").
- Alimento seco para perros en forma de galletas.
- Mortero y pilón.
- Cartones circulares de diámetros igual a los desecadores.
- Lápiz.

#### 3.2. Materiales químicos

- Sulfato de sodio anhidro
- Aceite esencial de hojas frescas de *Minthostachys mollis* Grisebach.

### 3.3. Material biológico

- Formas adultas de zancudos pertenecientes a la familia *Culicidae*
- Hojas frescas de “muña”.

### 3.4. Equipos

- Equipo de destilación por arrastre de vapor del Laboratorio de Química orgánica de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM 2015.

### 3.5. MÉTODOLOGÍA

Para la obtención del aceite esencial, se recolectó muestras de “muña” *Minthostachys mollis* Grisebach (la muestra fue clasificada por el Herbario de la UNMSM) de la región de Huánuco, éstas fueron cortadas con una tijera de podar, a 10 cm del suelo (19). El aceite se extrajo con el método de destilación por arrastre de vapor utilizando hojas de la planta (19) en el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM obteniendo al final un producto, al cual se le agregó finalmente sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente, después se filtró el extracto y se guardó en un frasco ámbar de vidrio se obtuvo 22 mL de aproximadamente tres mil seiscientos sesenta y siete gramos (3167 g) de hojas frescas de muestra.

En esta investigación se emplearon mosquitos obtenidos por el método de recuperación de larvas en aguas estancadas del Jardín Botánico de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, Lima-Perú; posteriormente las larvas fueron llevadas al Laboratorio de Farmacología en donde fueron cuidadas y alimentadas con pequeñas cantidades de comida seca para perros en forma de galletas, las cuales fueron pulverizadas en un mortero previamente antes de ser añadidas.

A los 15 días aproximadamente se obtuvieron las formas adultas de éstos insectos que se utilizaron para el estudio de Laboratorio.

Para los estudios de laboratorio se tomó como referencia el método propuesto por Talukder y Howse (24). Se cortó papel filtro del diámetro de los desecadores (25 cm aproximadamente) que simularon la jaula de prueba, este papel se dividió en dos mitades. Para evitar la volatilidad del aceite se preparó soluciones al 10, 15, 20 % v/v utilizando aceite mineral USP cosmético. Las Soluciones se aplicaron en una de ellas; las mitades tratadas se dejaron reposar hasta que la solución secó totalmente, como control positivo se usó la marca comercial de repelente Off ® en spray que contiene DEET al 15% aprox. (según información del propio producto) y como control negativo aceite mineral cosmético. Las zonas tratadas y no tratadas de cada círculo se colocaron en forma contigua dentro de los desecadores, y se liberaron en su interior 10 mosquitos conocidos como “zancudos” que corresponden a la familia *Culicidae* (clasificados por el museo de Historia Natural de la UNMSM) y que comúnmente se encuentran en nuestro medio. Se realizaron los recuentos de mosquitos presentes en cada mitad del círculo cada hora hasta la tercera hora posterior al tratamiento.

Los datos se convirtieron en porcentaje de repelencia (PR) por medio de la siguiente fórmula:

$$PR(\%) = ((Nc - 50) \times 2)$$

Dónde: Donde **Nc** es el porcentaje de mosquitos presentes en la mitad testigo.

Valores positivos (+) indican repelencia y valores negativos (-) indican atracción.

De acuerdo a los resultados se elige la concentración más adecuada para su incorporación en una crema y se evalúa el efecto de acuerdo a la metodología empleada.

### **3.6. Elaboración de una forma farmacéutica de aplicación tópica a base de aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach.**

#### **3.6.1. Evaluación de la forma farmacéutica tópica**

A. Objetivo: Desarrollar una forma farmacéutica tópica a base del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach con efecto repelente

Al ser el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach una droga con propiedad de repelencia buscamos un efecto no penetrante, es decir no debe atravesar la piel en su totalidad, por lo tanto no debe encontrarse en la sangre.

Se elegirá una crema aceite en agua (O / W), estas cremas son generalmente (pero no exclusivamente) utilizadas para la administración tópica de fármacos solubles en el agua de la piel, para lograr una efecto local (por ejemplo, para el tratamiento de infección o inflamación). Por lo general se aplican fácilmente a la superficie, no son grasos y puede ser lavado de la piel (26). Se elaboró una crema blanca de aspecto uniforme con un pH = 7.

En la elaboración de la crema se aplicó la técnica tradicional para la elaboración de cremas, que implica la fusión de las grasas y el calentamiento de la fase acuosa para su posterior homogenización e incorporación mecánica

del extracto en frío, una vez formada la crema a una temperatura menor a 25 °C (30).

Fórmula:

Cada 100 g de a crema a base de aceite esencial de ***Minthostachys mollis***

*Grisebach* contiene:

-Aceite esencial.....10 g.

-excipientes *csp*.....90 g.

#### IV.-RESULTADOS

Tabla 2. Cantidad de insectos repelidos con las muestras en estudio por intervalo de tiempo

Muestra	TIEMPO		
	1 hora	2 horas	3 horas
DEET (Off®)	10	10	10
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach al 10%	5	6	5
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach al 15%	6	7	5
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach al 20%	7	6	5
Vaselina Líquida	3	4	3
Crema con el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach al 10%	5	6	5

Convirtiendo en porcentaje de repelencia (PR) por medio de la siguiente fórmula:

$$PR(\%) = ((Nc - 50) \times 2)$$

Donde **Nc** es el porcentaje de mosquitos presentes en la mitad testigo.  
Valores positivos (+) indican repelencia y valores negativos (-) indican atracción.



Los valores medios se categorizan según la siguiente escala:

Tabla 3. Clasificación según el grado de repelencia (+)

Clase	Grado de Repelencia %
I	0,1 a 20
II	20,1 a 40
III	40,1 a 60
IV	60,1 a 80
V	80,1 a 100

Tabla 4. Grado de repelencia por cada muestra estudiada de acuerdo al intervalo de tiempo.

Muestra	$PR(\%) = ((Nc - 50) \times 2)$					Grado de Repelencia (+)
	1hora	2horas	3horas	Total	Promedio	
DEET (Off)	100	100	100	300	100	Grado V
Aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach 10%	0	20	0	20	6.7	Grado I
Aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach 15%	20	40	0	60	20	Grado I
Aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> Grisebach 20%	40	20	0	60	20	Grado I
Vaselina Líquida	-20	0	-20	0	-13.333	No repele
Crema con el Aceite esencial	20	0	0	20	6.7	Grado I

<b><i>Minthostachys mollis</i></b> <b><i>Grisebach</i></b> al 10%						
--	--	--	--	--	--	--

(+)Tomado como referencia de: Ramón V. Diseño y desarrollo de una loción repelente a partir del aceite esencial de la especie palo santo (*Bursera graveolens*) [Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico].Loja: Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador; 2012. (50).

## V.- DISCUSIÓN:

Los aceites esenciales de las plantas por lo general tienen una composición muy variada, algunos de estos componentes presentes suelen ser producidos por la planta, con el fin de disuadir el ataque de insectos (33) y pueden variar su composición considerablemente entre las especies de plantas y dentro de la misma variedad en diferentes áreas geográficas (34).

Un gran número de aceites esenciales provenientes de diferentes familias han demostrado repelencia contra especies de artrópodos (13). Estudios realizados por diversos autores plantean que algunos monoterpenos, como  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -mirceno, linolool, 1,8-cineol, 4-terpineol, timol, carvacrol,  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno, limoneno, alcanfor poseen algún tipo actividad insecticida (38) y entre los sesquiterpenos el  $\beta$ -cariofileno es citado como un repelente fuerte en contra de *Ae. aegypti* (35). Aunque las propiedades repelentes de aceites esenciales varían regularmente entre plantas, al parecer, la bioactividad está asociada con la presencia conjunta de monoterpenos y sesquiterpenos en la composición específica de cada aceite (35,36), y de acuerdo a los análisis por cromatografía de gases podemos ver que el aceite de *Mintostachys mollis* posee una composición muy variada de estos terpenos (37).

En el estudio realizado al aceite de *M. quinquinervia* que presenta, los monoterpenos 1,8-cineol, limoneno y además el sesquiterpeno viridiflorol, los autores adoptan el criterio que la actividad conjunta de estos metabolitos es la que brinda la repelencia al aceite, por ser reportados anteriormente por otros autores como responsables de algún tipo de actividad insecticida (40) de acuerdo a los datos encontrados para nuestra especie podemos observar que también posee los mismos monoterpenos además de otros que posiblemente complementen la actividad repelente y quizá también responsables de una posible acción insecticida.

Por lo general, la mezcla de todos los componentes de un aceite hace que posean mayor actividad biológica, en comparación con los componentes aislados (41). Inclusive, se ha comprobado que la mezcla de varios aceites tiene mejor resultado que los aceites por separado, debido a que aumenta la concentración de los componentes (42) e inclusive se ha corroborado que hay monoterpenos con efecto sinérgico letal (43).

Dentro de los muchos estudios realizados para demostrar y explicar la repelencia, está el estudio realizado con 20 terpenoides con dos grupos funcionales, uno con carga negativa, que contenía ésteres o hidroxilos de etanol, y uno con carga positiva, que contenía grupos alcanos. Se encontró que los que poseen la carga positiva, en el extremo de la cadena hidrogenocarbonada, son los más propicios para las interacciones con los quimiorreceptores (44).

De acuerdo a los resultados obtenidos, encontramos un grado de repelencia (nivel I) para el aceite de ***Minthostachys mollis* Grisebach** en las concentraciones ensayadas. Los datos obtenidos en la tabla 3, se relacionan bajo los criterios de momento dipolar y el punto de ebullición. El primero podría estar relacionado con las interacciones electrostáticas específicas con el receptor, mientras que el punto de ebullición a una determinada presión de vapor puede determinar la duración del tiempo de contacto con los quimiosensilios olfativos de los mosquitos (44).

Estudio de los aceites esenciales de plantas aromáticas que crecen en Argentina, en donde también se menciona a ***Minthostachys mollis*** dentro del grupo de plantas estudiadas, demostró repelencia contra *Aedes aegypti* (14), especie que a su vez pertenece a la familia *Culicidae*.

La Crema:

En el caso de la crema elaborada a partir del aceite esencial de ***Minthostachys mollis* Grisebach** se obtuvo una repelencia de Grado I. Se elaboró la crema con la concentración de 10 % del aceite esencial ya que no se obtuvo diferencias significativas en comparación con las otras concentraciones, además debemos tener en cuenta que cada aceite esencial posee virtudes e inconvenientes característicos, el olor fuerte es uno de ellos, algunos son capaces de producir irritaciones, alergias o incluso pueden llegar a ser tóxicos cuando se ingieren o se aplican tópicamente sobre grandes superficies corporales. Teniendo en cuenta esta consideración se debe resaltar

que este resultado fue in vitro, y no se pudo completar más datos como los que serían el test de alérgenos o el test de irritabilidad, sin embargo se debe tener en cuenta que los aceites esenciales son volátiles y la forma farmacéutica y la concentración con el criterio adecuado podrían mejorar el efecto del componente activo (15). Gillij et al. (2008) evaluaron 14 aceites al 90 % de pureza, encontrando dos con muy poca acción repelente debido a que solo protegieron por 3 y 6 minutos (41). Este efecto lo supone a que los aceites esenciales actúan comúnmente en una fase de vapor (48), lo que los hace eficaces durante un periodo de tiempo relativamente corto (49). Este hecho relacionado con su alta volatilidad, podría ser mejorado a través del desarrollo de formulaciones para mantener los ingredientes activos sobre la piel durante periodos de tiempo más largos.

En estudios realizados con formulaciones de *Cymbopogon citratus*, la eficacia de las diferentes formulaciones fue mayor en una base hidrofílica seguido de la base emulsionable y en la base oleosa (46). Sin embargo, en nuestro estudio solo se preparó una crema hidrofílica con el aceite esencial, sin embargo vemos que arroja un grado de repelencia similar. El estudio de la concentración del aceite en diferentes bases nos ayudaría a desarrollar un mejor producto.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y de acuerdo a la bibliografía consultada para la elaboración de la crema se deben elegir excipientes que proporcionen adecuadas características fisicoquímicas. Existen estudios donde se han añadido algunos materiales fijadores para hacer perdurar el efecto de repelencia, como la parafina y vainillina. Este último, no solo aumenta

significativamente los tiempos de protección, sino que también lo hace efectivo para diferentes especies de mosquitos (47) lo que será motivo de un estudio posterior.

## VI.- CONCLUSIONES

- El aceite esencial de ***Minthostachys mollis* Grisebach** extraído por el método de arrastre de vapor, presenta actividad repelente frente a zancudos de la familia ***Culicidae***.
- La crema formulada con el aceite esencial de ***Minthostachys mollis* Grisebach** al 10% mantiene actividad repelente, frente a los zancudos de la familia ***Culicidae***.
- El punto de ebullición es un determinante importante a tener en cuenta a la hora de la formulación repelente.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar los estudios de sensibilidad.
- Realizar estudios de alergenidad.
- Realizar más estudios en base a la crema repelente (estabilidad).
- Realizar el ensayo con la especie *Aedes aegypti* infectado con el virus del dengue en un laboratorio con el apropiado nivel de seguridad que sugiere este estudio, siguiendo los lineamientos de la OMS.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Trujillo, A. I. C. and L. C. V. Jiménez. "El virus chikungunya, una enfermedad emergente en América." *Revista Ciencia Animal*. Colombia. 2014; (8): 85-93.
2. Gustavo, K. "El dengue, un problema creciente de salud en las Américas." *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2006; **19**(3): 143-145.
3. Guzmán J. Situación epidemiológica del dengue en el Perú. 2014; 23 (14): 270 –274.
4. Blackwell A, Stuart E & Estambale BA. The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* oil against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicyluric acid. *The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2003;33(3): 209-214



5. Choochote W, Chaithong U, Kamsuk K, Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Tuetun B, Champakaew D & Pitasawat B. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*.2007; 78 (5):359-364.
6. Fradin MS & Day JF.Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New England Journal of Medicine*. 2002; 347 (1): 13-18.
7. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. 2006; 51: 45-66.
8. NAT. 2000. National Pesticides Telecommunications Network DEET (General Fact Sheet). Oregon State University. Disponible en <http://npic.orst.edu/factsheets/DEETgen.pdf>
9. Ware GW & Whitacre DM. 2004. *The Pesticide Book*. Willoughby, Ohio: Meister Media Worldwide.
10. Moore SJ, Hill N, Ruiz C & Cameron MM. Field evaluation of traditionally used plant-based insect repellents and fumigants against the malaria vector *Anopheles darlingi* in Riberalta, Bolivian Amazon. *Journal of Medical Entomology*. 2007; 44 (4): 624-630.

11. Trongtokit Y, Rongsriyam Y, Komalamisra N & Apiwathnasorn C. 2005. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*. 19 (4): 303-309.
12. Formulario Modelo de la OMS. 2004. 179-180.
13. Nerio, L. S., J. Olivero-Verbel, et al. "Repellent activity of essential oils: A review." *Bioresource Technology*. 2010; 101(1): 372-378.
14. Choochote, W., D. Chaivasit, D. Kanjanapothi, E. Rattanachanpichai, A. Jitpakdi, B. Tuetun, and B. Pitasawat. Chemical composition and antimosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: *Culicidae*). *J. Vector Ecol.* 2005; 30: 302-309.
15. Gillij, Y. G., R. M. Gleiser, et al. "Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina." *Bioresource Technology*. 2008; 99(7): 2507-2515.
16. Ulloa C. Aromas y sabores andinos. *Rev. Botánica Económica de Los Andes Centrales*. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Bolivia. 2006; 1: 313-328.
17. Schmidt- Lebuhn, A. N. Revisión del *genus Minthostachys (Labiatae)*. *Memoirs of the New York Botanical Garden*. 2008; 98: 1-77.

18. Brako L., Zarucchi J. Catalogue of the Flowering plants and Gymnosperm of Perú. Missouri Botanical Garden. 1993.
19. Maquera D., Tello M., Romero S., Cotacallapa D. Caracterización Morfológica y momentos de corte de la población natural y cultivada de “muña” ***Minthostachys mollis*** (Kunth) Griseb para obtención de aceites esenciales en la microcuenca del Higueras. Investigación valdizana. 2009; 3(1): 22-29.
20. Alkire, B.; Toker A., Maciarello M. Tipo, *Minthostachys mollis* (*Lamiaceae*): an Ecuadorian mint. Economic Botany. 1994; 48(1):60-64
21. Senatore, F. Volatil e constituents of *Minthostachys setosa* (Briq.) Epl. (*Lamiaceae*) from Perú. Flavour Fragr. Journal. 1998; 13: 263-265.
22. Rojas B., Usubillaga A. 1995. Essential oil of *Minthostachys mollis* Grisebach from Venezuela. J. Essent. Oil Res. 1995; 7:211-213.
23. Fuertes C., Munguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de ***Minthostachys mollis*** Grisebach (Kunth) Griseb “muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación. Perú. 2001; IV: 23-39.
24. WHO. Talukder F., Howse P, (1994). Laboratory evaluation of toxic and repellent properties of the pithraj tree, *Aphanamixis polystachya* Wall &

Parker, against *Sitophilus oryzae* (L.). International Journal of Pest Management, 40(3): 274-279.

25. O'Neil MJ (Ed). The Merck Index. 14th ed. Whitehouse Station (NJ): Merck & Co., Inc., 2006.

26. Vila, J. Tecnología Farmacéutica. Editorial Síntesis Farmacia. Volumen II. Madrid 1998.

27. Trillo, F. Tratado de Farmacia Galénica. Editorial Egraf S.A. 1ra edición. Madrid 1996.

28. Voight, R. Tratado de tecnología Farmacéutica. Editorial Acribia, 3era edición. Zaragoza 1982.

29. Helman, J. Farmacotecnia teoría y práctica. Editorial Continental. VIII. México D. F. 1980.

30. Paucar S., Rojas D. Diseño de una forma farmacéutica semisólida de aplicación tópica a base de bálsamo de copaiba con efecto cicatrizante [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.

31. Frances SP & Wirtz RA. Repellents: past, present, and future. Journal of American Mosquito Control Association. 2005; 21 (sp1): 1-3.

32. Vargas, V. M. Notas sobre Artropodología Médica. Oficina de Publicaciones Universidad de Costa Rica. 1976.
33. Gatehouse J. A. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytologist*. 2002; 156 (2): 145-159
34. Zygodlo, J. A. and H. R. Juliani. Study of essential oil composition of aromatic plants from Argentina. In: D. K. Majundar, J. N. Govil, and V. K. Singh (eds.), recent progress in medicinal plants. 2003; 8: 273–293.
35. Jaenson TG, Palsson K & Borg-Karlson AK. Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea Bissau. *Journal Medical of Entomology*. 2006; 43 (1): 113-119.
36. Sukumar K, Perich M & Boobar L. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 1991; 7: 210-237.
37. Maquera D; Romero S; Cotacallapa D; Tello M. Componentes químicos de los aceites esenciales de muña *Minthostachys mollis* Grisebach (Kunth.) en Huánuco. *Revista de investigación Valdiviana*. 2009; 3(2): 100-106.
38. Araujo ECC, Silveira ER, Lima MAS, Neto MA, Andrade IL & Lima MAA. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis*

martisii Benth. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; 51 (13): 3760-3762.

39. Morales-Rico C, Marrero-Delange D, González-Canavaciolo V, Quintana-Ramos F & González Camejo I. (En prensa). Caracterización físico-química del aceite esencial de las partes aéreas de *Melaleuca quinquenervia*. Comunicación corta: Revista CENIC. Ciencias Químicas. Cuba. 2012.
40. Leyva M, Tiomno O, Tacoronte JE, Marquetti MC, Montada D. Essential Plant Oils and Insecticidal Activity in *Culex quinquefasciatus*. En Insecticides Pest Engineering (Perveen F., ed.) Ed. Intech. 2012; 221-238 pp. Disponible en <http://www.intechopen.com/books/insecticides-pest-engineering>.
41. Gillij YG, Gleiser RM & Zygadlo JA. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. Bioresource Technology. 2008; 99(7): 2507-2515.
42. Liu CH, Mishra AK, Tan RX, Tang C, Yang HY & Shen F. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bioresource Technology. 2006; 97(15) 1969-1973.

43. Leyva M, Tacoronte JE, Marquetti MC, Tiomno O, Montada D & Mesa A. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Revista Cubana de Medicina Tropical. 2008; 60 (1): 78-82.
44. Wang Z, Song J, Chen J, Song Z, Shang S, Jiang Z & Han Z. Study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. Bioorganical & Medical Chemistry Letters. 2008; 18 (9): 2854-2859.
45. Oyedele A, Gbolade O, Sosan A, Adewoyin M, Soyelu F & Orafidiya O. Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from Lemongrass oil. Phytomedicine. 2002; 9: 259-262.
46. Oyedele, A. O., Orafidiya, L. O., Lamikanra, A., Olaifas, J. I. Insect Science and its Application. Nigeria. 2000; 20: 123-128.
47. Tawatsin A, Wratten SD, Scott RR, Thavara U & Techan damrongsin Y. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. Journal of Vector Ecology. 2001; 26 (1): 76-82.
48. Zhu BC, Henderson G, Chen F, Fei H & Laine RA. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the *Formosan subterranean* termite. Journal of Chemical Ecology. 2001; 27(8): 1617-1625

49. Barnard D. Repellents and toxicants for personal protection. En Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.5. Geneva Switzerland. 2000.

50. Ramón V. Diseño y desarrollo de una loción repelente a partir del aceite esencial de la especie palo santo (*Bursera graveolens*) [Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Loja: Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador; 2012.

## IX. ANEXOS

### ANEXO I.- Galería de imágenes en el laboratorio.

LARVAS DE  
"MOSQUITOS"

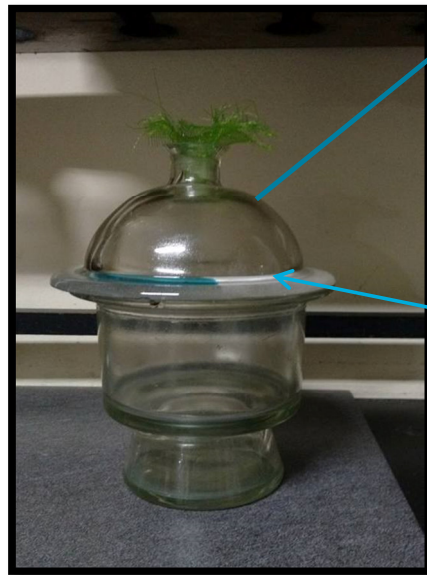




**a. RECUPERACIÓN DE LARVAS.**

(Se pueden apreciar mejor la aparición de larvas en el recipiente de recuperación en la esquina superior izquierda)

**b. MODELO DE JAULA PARA EL BIOENSAYO.**



**DESECADOR  
UTILIZADO COMO  
“JAULA PARA EL  
BIOENSAYO”**

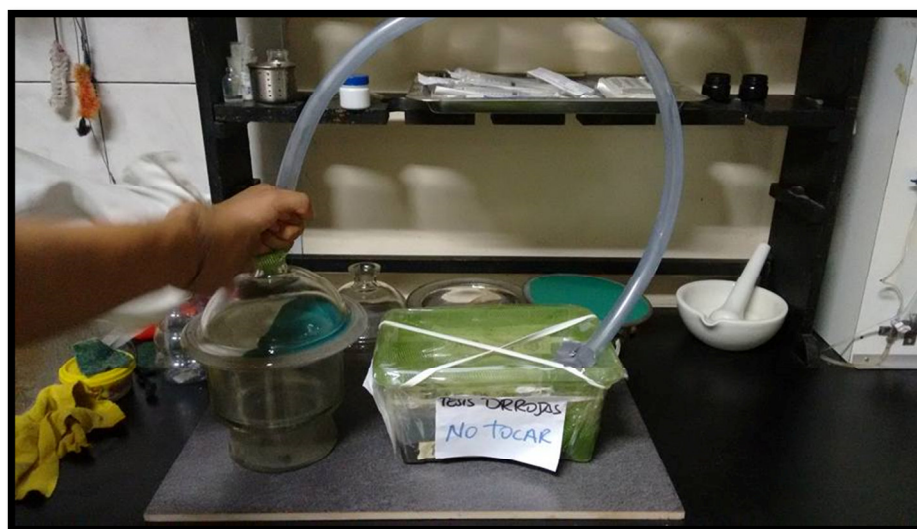
**PAPEL DE  
FILTRO**

**c. EXTRACCIÓN DE LOS INSECTOS HACIA LAS JAULAS.**

**“MOSQUITOS ADULTOS”  
DENTRO DEL RECIPIENTE  
DE RECUPERACIÓN**

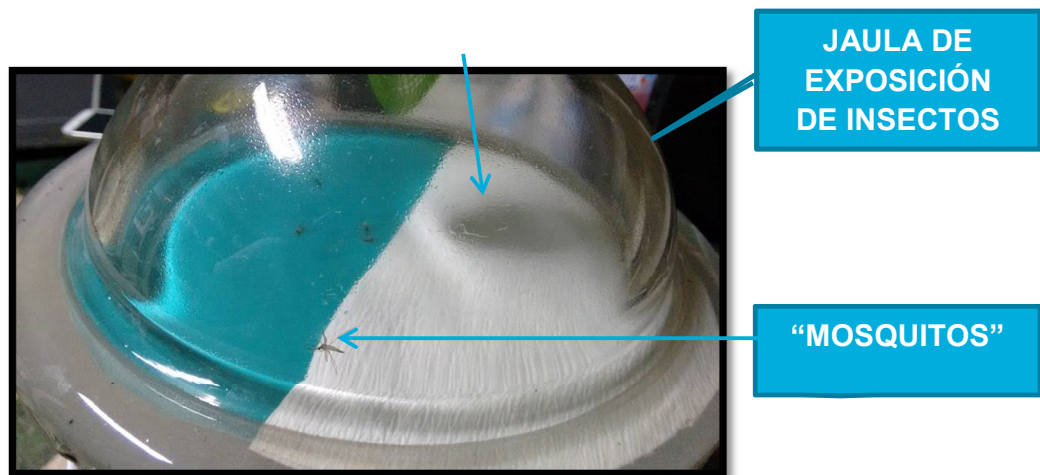


- d. MIGRACIÓN DE LOS “MOSQUITOS” DESDE EL RECIPIENTE DE RECUPERACIÓN HACIA LA “JAULA DE EXPOSICIÓN” (DESECADOR).



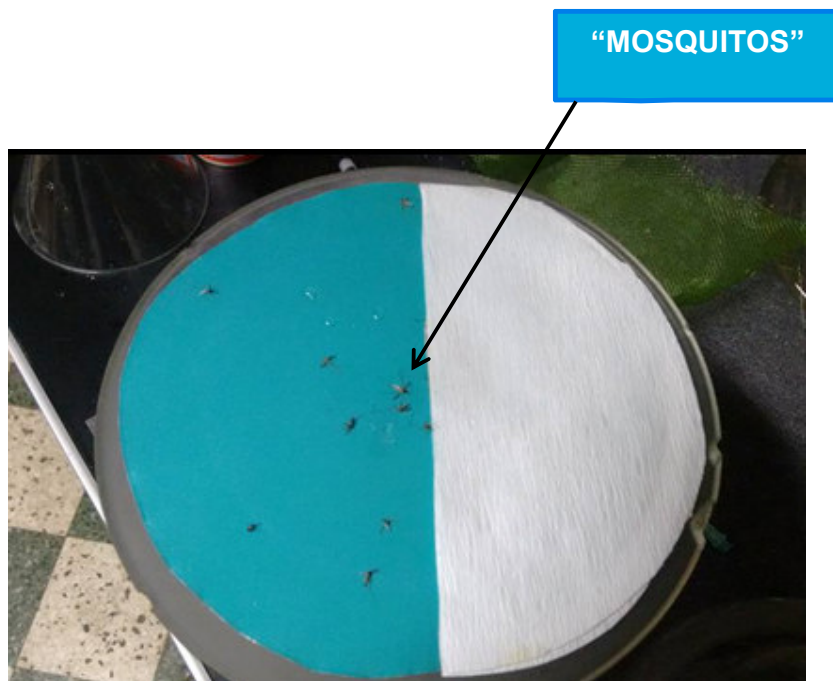
- e. RESULTADOS DE EXPOSICIÓN DE LOS INSECTOS AL DEET.

PAPEL FILTRO  
HUMEDECIDO CON  
DEET



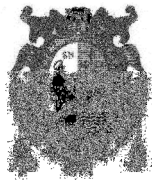
(Se aprecia que los “mosquitos” migran hacia la zona que no está humedecida con el DEET)

**f. ESTADO FINAL DE LOS MOSQUITOS DESPUÉS DE LA TERCERA HORA DE EXPOSICIÓN AL DEET.**



(Todos murieron después de la tercera hora de exposición en la jaula)

**Anexo II: CONSTANCIA DEL MATERIAL BIOLÓGICO PERTENECE A LA  
FAMILIA DE LOS CULÍCIDOS:**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



Lima, 4 de noviembre del 2015

**A QUIEN CORRESPONDA**

Por la presente, se deja constancia, que CARLOS EDUARDO DAVILA GUERRA entregó al Departamento de Entomología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, cuatro ejemplares de zancudos para su identificación.

Tras de examinarlos, la entomóloga Irene Medina, confirma que este material corresponde a *Culex* sp., perteneciente a la familia COLICIDAE.

Se otorga la presente constancia para los fines que el interesado considere convenientes.

Quedo a su disposición para información adicional en caso requiera información adicional.

Atentamente,

Diana Silva Davila, Ph.D.  
Departamento de Entomología  
Museo de Historia Natural, UNMSM  
Av. Arenales 1256, Ap. Postal 14-0434  
Lima 14, Perú  
dianasil@gmail.com

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Tel/s: (511) 471-0117, 470-4471  
470-7918, 6197000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe  
http://museohn.unmsm.edu.pe

**ANEXO III.- CONSTANCIA DE QUE EL MATERIAL BIOLÓGICO VEGETAL  
SE TRATA DE *Minthostachys mollis* Grisebach**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

